Aus der Medizinischen Universitätsklinik Basel
(Vorsteher: Professor Dr. R. Staehelin)
(Bakteriologisches Laboratorium. Vorsteher: Professor Dr. R. Massini)

Ein Beitrag zur Frage der Dissoziation der Tuberkelbazillen

(Typus humanus)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel
vorgelegt von

WERNER S. PRENZLAU
aus
Hamburg
(Deutschland)

STETTEN, BASEL 1939
BUCHDRUCKEREI KARL SCHAHL

Genehmigt

von der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

auf Antrag von Herrn Professor Dr. R. MASSINI

Tag der Promotion: 7. Januar 1939

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Verehrung und Dankbarkeit gewidmet!

Einleitung.

Mit der Entdeckung des Tuberkelbazillus durch *Robert Koch* lernte man auch bald die verschiedenen Typen (humanus, bovinus, gallinaceus) unterscheiden. Später vermochte man auch diese noch weiter aufzuspalten und aus ihnen verschiedene Varianten zu züchten. Das Studium dieser Variationen ist auch von praktischer Bedeutung, weil ihnen eine verschiedene Pathogenität nachgewiesen werden konnte. Bei diesen Untersuchungen wurde der Typus humanus am wenigsten berücksichtigt, da er am schwersten zu dissoziieren ist. Erst *Petroff* und seine Mitarbeiter brachten mit ihren exakten Untersuchungen (1930) neues Licht in das Dunkel der bazillären Dissoziation.

Das Ziel unserer Untersuchungen war, die makroskopischen und die mikroskopischen Phänomene der Dissoziation des B. tuberculosis auf Petroff-Nährböden zu studieren, welche sich vor allem in der Abänderung der Morphologie der Kolonien, ihrer Chromogenität und in der Morphologie des Bazillus zeigen. Die Änderungen der Virulenz und der immunbiologischen Eigenschaften wurden nicht geprüft. Dagegen wurde ein neues Verfahren angewandt, um einen Einblick in die mikroskopische Struktur der Tuberkelkolonien zu erhalten.

Technik.

Im technischen Verfahren folgten wir größtenteils den Angaben von *Petroff* und *Steenken jr.* Es handelt sich um einen Fleischsaft-Eier-Glycerin-Gentianaviolett-Nährboden, über dessen Bereitung wir kurz Folgendes zitieren:

Fleischsaft: 500 gr gehacktes, mageres Kalbfleisch werden zusammen mit 500 ccm einer 15-prozentigen Lösung von Glycerin in Wasser in einen Kühlschrank gebracht. Nach 24 Stunden wird das Fleisch durch ein Käsetuch gequetscht und der Saft in einem sterilen Gefäß aufgefangen.

Eier: Die Eier müssen frisch sein. Man legt sie eine halbe Stunde in 70-prozentigen Alkohol, trocknet sie mit steriler Gaze ab, öffnet sie und entleert sie in eine sterile Glasperlen-Schüttelflasche, worin sie kräftig durchgeschüttelt werden. Dann fügt man zu zwei Volumen Eiern ein Volumen Fleischsaft und filtriert das Ganze durch doppelte Gaze.

Gentianaviolett: Zur leichteren Erkennung der kleinen Kolonien und zur Verminderung des Wachstums anderer Keime wird nun eine frisch bereitete, 1-prozentige alkoholische Lösung von Gentianaviolett (1 ccm des Farbstoffes auf 300 ccm des Mediums) hinzugefügt. Nach gründlichem Umschütteln wird nochmals durch sterile Gaze filtriert und der sich bildende Schaum mit einer Wasserstrahlpumpe abgesogen und der fertige Nährboden in die Petrischalen abgefüllt.

Wenn der Petroff-Nährboden für klinisch-diagnostische Zwecke auch anderen Nährböden hintanstehen mag, da die Entwicklung der Kulturen 4—5 Wochen in Anspruch nimmt, so ist ihm doch für experimentelle Zwecke der Vorzug zu geben, da seine Zusammensetzung das Wachstum anderer Bakterien (Luftkeime) mehr als alle anderen hemmt.

Sterilisation:

1. Tag: Gerinnung bei 80° C ca. 3 Stunden im Löffler-Trockensterilisator, dann zwecks stufenweiser Abkühlung in den Brutschrank (37° C).

2. Tag: 1½-stündige Sterilisation im Löfflerofen bei 75° C. Über Nacht in den Brutschrank.

3. Tag: 1½-stündige Sterilisation im Löfflerofen bei 75° C. Dann drei mal 24-stündiges Verweilen im Brutschrank zur Prüfung der Sterilität (Luftkeime oder ein schlechtes Ei können unerwünschtes Wachstum verursachen).

Bouillonaufschwemmung: Tbc.-Kultur mit Spatel entnommen, oberhalb der Flüssigkeit verrieben und in die Bouillon hineingewaschen. Halbstündiges Absetzenlassen der groben Partikel. Mit Platinöse 2 Tropfen dem oberen Teile der Bouillon entnommen und mit dem gleichen Drigalsky-Spatel nacheinander auf 3—4 Petri-Schalen verimpft.

Da die Selbstherstellung von Gummikappen nach den Angaben von *Petroff* auf technische Schwierigkeiten stieß, ließen wir uns durch die Firma Max Stehle in Basel rote Gummimanschetten von 80 mm äußerem Durchmesser für diesen Zweck anfertigen. Wird eine Platte dem Brutschrank entnommen, so darf die Manschette nicht vor vollkommener Abkühlung der Platte entfernt werden, da sonst die rasch einströmende kältere Luft Keime von außen einschleppt.

Untersuchungsergebnisse.

a) Morphologie:

Um die Kultur-Morphologie des B. tuberculosis eingehend studieren zu können, scheint uns unerläßlich, seine Züchtung in Petri-Schalen vorzunehmen und nicht in Reagensgläschen, die den Kolonien viel zu wenig Raum und Nährsubstrat bieten, um sich ungehemmt entwickeln zu können. In einer großen Reihe von Fällen konnten wir beobachten, daß auf Platten mit sehr dichter Aussaat die Kolonien meist den sog. „S"-Typus zeigten, während die einzeln stehenden Kolonien mehr Gelegenheit hatten im Sinne des sog. „R"-Typus flächenhaft zu wachsen. Auch in der soeben veröffentlichten grundlegenden Arbeit über Dissoziation des Tuberkelbazillus berichtet *Roulet*, daß das Plattenverfahren das Auftreten der R-Variante zu begünstigen scheint, was wir bestätigen konnten.

Die Nomenclatur ist bei verschiedenen Autoren eine verschiedene. Wenn im Folgenden von R und S die Rede ist, so verstehen wir darunter nach *Saenz* und *Costil* folgendes:

R-Kolonien: Rauhe Oberfläche, trocken, faltig, unregelmäßig in Rand und Form. R repräsentiert sich gewöhnlich als „eugonique", d. h. schnell wachsend und schwer emulgierbar.

S-Kolonien: Flach, feucht, glänzend, rund, halbkugelig, regelmäßig begrenzt, leicht emulgierbar. S: gewöhnlich „dysgonique", d. h. schlecht wachsend. Unter Ch verstehen wir die pigmentierte (chromogene) Form der Kolonien. Letztens wurden z. B. von *Petroff* noch Zwischenformen beschrieben.

Aus der großen Zahl der Versuchsreihen sei hier ein Beispiel der Überimpfung auf 5 Generationsfolgen angeführt (s. Schema), in deren Verlauf R-Kolonien in S-Kolonien variiert werden konnten.

Über die im Folgenden besprochenen Plattenfolgen orientiert folgendes Schema:

Generation	Impfung	Platten Nr.
I.	31. 12. 36	7 → 8 → 9 → 10
II.	11. 4. 37	59 → 60
III.	10. 10. 37	90 → 91
IV.	12. 12. 37	102 → 104
V.	21. 2. 38	129

Ausgehend von einer Reinkultur, die aus einem Liquor im Jahre 1928 gezüchtet werden konnte, wurde nach oben geschildertem Verfahren eine Bouillonaufschwemmung hergestellt und von ihr auf 5 Petroff-Platten abgeimpft.

Platte 10, IV. Ausstrich, I. Generation:

Nach 28 Tagen: 2—3 eben sichtbare Kolonien.
Nach 49 Tagen: 6 Tbc.-Kolonien.
Nach 60 Tagen: 7 konfluierende Kolonien, R-Typus, krümeliges, gehirnwindungsähnliches Wachstum in konzentrischen Kreisen.
Nach 99 Tagen: Zentraler gelber Blütenkopf, dann radiär ausstrahlende, braun-pigmentierte Blüte, die sich scharf gegen den flachauslaufenden zitronengelben Rand abhebt. Peripher heben sich verdickte Kolben ab.

Platte 60, II. Ausstrich, II. Generation:

Der braunrot pigmentierte Teil der Platte 10 wurde überimpft.
Nach 31 Tagen: Zahlreiche, verschieden große, bräunliche R-Kolonien. Zentraler bräunlicher Nabel.

Nach 70 Tagen: Stark vergrößerte, konfluierende Kolonien, polygonal, wenig erhaben, fein granuliert. Peripher gelbes Wachstum.
Nach 101 Tagen: Gelbes vom braunen Wachstum scharf abgesetzt.
Nach 175 Tagen: Kolonien sind als R-Kolonien zu betrachten, da ihnen zu viele Charakteristika der S-Kolonien fehlen.

Platte 91, II. Ausstrich, III. Generation:
Von den braun pigmentierten, fein granulierten Gehirnwindungen der Platte 60 wurde auf neuen Nährboden überimpft.
Nach 42 Tagen: Ca. 13 R-Kolonien, gelb, 1—8 mm Durchmesser.
Nach 54 Tagen: Ca. 20 Kolonien, gelb, 1—12 mm Durchmesser. Unregelmäßige Formen, Ähnlichkeit mit Typ von Platte 60. Zentraler Nabel, Hof aus feinsten Gehirnwindungen.

Platte 104, III. Ausstrich, IV. Generation:
Überimpfung einer gelben R-Kolonie.
Nach 33 Tagen: 40—50 hellgelbe Kolonien, teils R-, teils S-Wachstum.
Nach 45 Tagen: Außer 3 bräunlich pigmentierten Kolonien, am Rande alles gelbes Wachstum. Polygonale Kolonien mit zentralem Nabel, seichte Gehirnwindungen, einzelne S-Kolonien.
Nach 63 Tagen: Das Zentrum aller Kolonien ist braun pigmentiert mit Ausnahme des zentralen Nabels.

Platte 129, II. Ausstrich, V. Generation:
Überimpfung einer braun-pigmentierten S-Kolonie.
Nach 29 Tagen: Mehrere 1—1½ mm große, gelbe Kolonien.
Nach 47 Tagen: Deutliche S-Kolonien. Aussehen wie Mottenkugeln mit einem Schleierrand.
Feucht, Farbe eher bräunlich.
Nach 78 Tagen: Kolonien kaum vergrößert. Dysgonisches Wachstum, scharf abgesetzt, glänzend, gelbbräunlich.

Bei der Überimpfung unseres humanen Stammes konnten drei Varietäten dissoziiert werden: R, S und Ch, welche sich bei den Überimpfungen auf Petroff-Nährböden verschieden konstant erwiesen. Die meisten Kulturen des Typus humanus präsentieren sich bei der Isolierung als R-eugonique, während die S-Varianten nur sehr vereinzelt auftraten. Die Differenzierung ist ein umkehrbares Phänomen, welches auf die Dauer keine Stabilität aufweist. Den Beweis für die Reversibilität der Dissoziation konnten *Saenz* und *Costil* bei ihren Arbeiten über den Geflügel-Tuberkelbazillus erbringen, indem sie mittels Mikromanipulators von einem einzigen

Tuberkelbazillus ausgingen. Das Phänomen der Dissoziation stellt somit eine Variabilität im engeren Sinne von *de Vries* und keine Mutation oder Dauermodifikation dar.

Welches sind nun die Faktoren, welche die Dissoziation begünstigen? Vor allem scheint die Feuchtigkeit des Nährbodens bei der Differenzierung des B. tuberculosis eine ausschlaggebende Rolle zu spielen. Die Entwicklung der S-Variante ist nach unseren Beobachtungen an die Feuchtigkeit des Milieus gebunden, wie es schon *Barglowsky* und andere vermuteten. Die Platten mit S-Varianten haben stets ein feuchtes Aussehen, während die Platten des R-Typus trocken sind. Aus dieser Beobachtung erhellt auch die Wichtigkeit des guten Plattenverschlusses, um eindeutige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Die Frage, ob frische Kulturen schwerer zu dissoziieren seien als alte, konnte aus unseren Beobachtungen nicht eindeutig beantwortet werden. Zwar ergaben Überimpfungen von 202 Tage alten Kulturen einen deutlichen Übergang vom R- zum S-Typus, doch zeigten sich schon Kolonien im Alter von 175 Tagen bezüglich ihrer Dissoziationsfähigkeit ganz verschieden. *Barglowskys* Beobachtung, daß die S-Kolonien bei der Weiterzüchtung eine starke Neigung zeigen, in die R-Variante zurückzuschlagen, konnten wir in unseren Versuchen nicht bestätigen. Wir konnten nur einen einzelnen Fall beobachten, in welchem sich eine Kolonie vom S-Typus in die R-Variante zurückbildete. Andererseits konnten wir (wie *Birkhaug*) öfters die Beobachtung machen, daß die jungen Kulturen S-ähnlich wuchsen, während sie, wenn sie älter wurden, ins R-Wachstum umschlugen. Es ist unseres Erachtens im Frühstadium des Wachstums einer Kolonie selten zu entscheiden, ob es sich um eine R- oder S-Variante handelt.

b) Chromogenität:

Unsere Beobachtungen bezüglich der Chromogenität der Tuberkelbazillenkulturen gehen dahin, daß sich eine ziegelrot pigmentierte Mutation nicht erzielen ließ. Trotzdem wir pigmentierte Kolonien über mehrere Generationen weiterimpften, erschienen die jungen Kolonien meist in gelber Farbvariation, während die pigmentierte Form erst im Alter der Kolonie auftrat. Alle unsere Kolonien wurden in einem geschlossenen Metallkasten in vollkommen dunklem Brutschrank gezüchtet und zeigten dennoch einwandfreie Pigmentbildung, was der Auffassung von *Saenz* und *Costil* widerspricht, wonach die Pigmentation eine Funktion des Lichtes sein soll. Übereinstimmend mit *Laporte* konnten wir für

den Typus humanus bestätigt finden, daß die meisten pigmentbildenden Kolonien bei der R-Variante auftreten, während die S-Typen meist in gelber Farbe wachsen. Die Frage, ob der Ch-Typus leichter aus alten Kolonien zu züchten ist, als aus jungen, konnte nicht so eindeutig entschieden werden, wie sie *Saenz* für den Geflügelbazillus bejahte. Überimpfungen von 202 Tage alten Kolonien zeigten zwar schon zu Beginn des Wachstums Chromogenität, und auch 63 Tage alte Kolonien zeigten entweder gar keine oder sehr späte Pigmentbildung (nach 110 Tagen). Dazwischen liegen aber eine Reihe von Versuchen mit 175 Tage alten Kolonien, die sich bezüglich ihrer Pigmentbildung sehr verschieden verhielten. Nach allem scheint es uns am wahrscheinlichsten, daß die Pigmentbildung eine Erscheinung des Alterns ist.

c) Mikroskopisch:

Im Zusammenhang mit der Frage der Vermehrung der Tuberkelbazillen, studierten wir das mikroskopische Aussehen der einzelnen Bazillen. Die grundliegenden Untersuchungen von *Nedelkowitsch* wurden nachgeprüft und ergaben im Einzelnen folgendes Ergebnis:

Nachdem unter den Kolonien zwischen S-, R- und Ch-Varianten unterschieden worden ist, war es von großem Interesse zu sehen, ob auch bezüglich der Struktur der Bazillen ein Unterschied nachweisbar ist. *Saenz* und *Costil* machten beim Studium des Geflügelbazillus die Beobachtung, daß der Bazillus der S-Variante kürzer und weniger säurebeständig sei, als der der R-Variante. Die diesbezüglichen Beobachtungen über den Typus humanus sind nur vereinzelte. So berichtet kürzlich *Barglowsky* in seinen Untersuchungen über den Polymorphismus der Tuberkelbazillen, daß weder in der Gestalt, noch in der Form wesentliche Unterschiede zwischen der R- und S-Form bestünden.

In den von uns studierten Ausstrichpräparaten, die nach der Methode Ziehl-Neelsen gefärbt wurden, konnten wir in den S-Kolonien durchweg längere Stäbchen finden, als in den R-Kolonien. Zieht man dabei das Alter der Kolonie in Betracht, so ergibt sich, daß die aus jüngeren S-Kolonien (63—85 Tage alt) isolierten Stäbchen relativ länger sind als die aus älteren (140—150 Tage alt).

Am auffallendsten sind zweifellos die zahlreichen diphteroiden Stäbchen mit den bipolaren Granula oder Körnchen, welche man im Ausstrichpräparat eines frischen Sputums oder eines Pleura-

exsudates seltener antrifft. Die Körnchen färben sich nach Ziehl-Neelsen blau bis schwarz und sind einmal größer, einmal kleiner als der Durchmesser des Stäbchens. Man findet eines oder mehrere Körnchen in einem und demselben Stäbchen. Die „granuläre Form" der Tuberkulose ist besonders von *Knoll* und *Much* studiert worden und konnte auch in vivo nachgewiesen werden. Wir dürfen wohl heute mit *Nedelkowitsch* und anderen annehmen, daß die Körnchen ein Stadium der Ruhe und des Widerstandes, also doch „Sporen" darstellen, wenn auch mehr im botanischen als im bakteriologischen Sinne des Wortes (*Vondremer*). Unsere Untersuchungen zeigten deutlich, daß die Zahl der Körnchen mit zunehmendem Alter wächst. Ausstrichpräparate von 140—150 Tage alten Kolonien weisen reichlich bezw. sehr viele Körnchen auf, während 60—80 Tage alte Kolonien mäßig bis sehr wenig Körnchen aufweisen. Um zu keinen Fehldeutungen zu kommen, muß man jedoch bedenken, daß nicht das Alter der Kolonie allein, sondern auch die Stelle der Entnahme auf der Kolonie von Wichtigkeit ist. Die Bazillen an der Peripherie und auf den zentralen Tüpfeln sind relativ jungen Datums, da, wie schon oben bemerkt wurde, das Wachstum der Kolonie ein zweifaches ist: ein horizontales und ein vertikales. Die jungen Bazillen sind also der Mitte der Kolonie am entferntesten, vielleicht weil sie am Rand am meisten Sauerstoff haben (Oxyphilie der Tuberkelbazillen nach *Kahn* und *Vonides*). Dieser Tatsache entsprechen auch unsere Beobachtungen, die in mehreren Fällen, in welchen vom Rand der alten Kolonie abgeimpft wurde, Bazillen mit nur wenigen Körnchen gefunden wurden.

Die Zahl der Körnchen in den einzelnen Stäbchen ist variant. Meistens sitzt je eines an jedem Pol, die Breite des Stäbchens überragend, man sieht aber auch mehrere Körnchen die ganze Länge des Stäbchens durchsetzen. Ein Unterschied in der Körnchenzahl bei der S- oder R-Variante konnten wir nicht nachweisen. Ebenfalls konnten wir nicht beobachten, daß die Körnchen frei werden und aus ihnen neue Stäbchen herauswachsen. Wohl kommen hin und wieder freie Körnchen vor, doch konnten wir nicht entscheiden, ob ein neues Stäbchen aus ihnen herauswächst oder ob es noch an einem alten Stäbchen haftet. Ebenso konnte die Chromogenität der Kolonien mit dem Auftreten der Körnchen in keinem näheren Zusammenhang gebracht werden. Die Fragmentierung der Stäbchen konnte in den älteren Kolonien (140—150 Tage alt) nicht mehr deutlich nachgewiesen werden.

Studium der Koloniestrukturen in fixierten Schnittpräparaten.

a) Technik:

Zur Gruppeneinteilung der Tuberkelbazillenkolonien hatten wir bisher, wie andere Autoren auch, das makroskopische Bild der Kolonie, ihrer Oberfläche und Form verwandt. Wir wissen, daß diese Einteilung eine recht grobe ist, da es Kolonien gibt, die ihrem Aussehen nach, sowohl den R- wie den S-Varianten zugerechnet werden können. Um nun einen Einblick in die innere Struktur der Tuberkelbazillenkolonien zu bekommen, wandten wir ein ähnliches Verfahren an, wie es bei der Herstellung histologischer Schnittpräparate zur Anwendung gelangt, wie *R. Massini* es zuerst für bacillus coli angab.

Nach Vorversuchen wurden die Kolonien samt dem Nährboden sorgfältig herausgeschnitten, in eine kleine Petrischale gelegt und mit flüssigem Agar übergossen, bis sie vollständig überdeckt waren. Ist der Agar erstarrt, so wird die Kolonie samt dem Agar-Überzug in 70 %igen Alkohol fixiert (24 Stunden). In je weiteren 24 Stunden folgen sich 95 %iger und 100 %iger Alkohol, ferner Xylol pur., Paraffin I und Paraffin II. Die so gehärteten Kolonien können nun in Paraffin-Blöcke eingebettet und mit dem Mikrotom geschnitten werden. Bei sorgfältiger Technik erhält man brauchbare, dünne Schnitte, die nach Ziehl ohne Gegenfärbung gefärbt werden. Die Kolonien erscheinen rot, der Nährboden rosa, während der Agar farblos bleibt.

b) Untersuchungsergebnisse:

Schon bei schwacher Vergrößerung lassen sich die Wachstumeigentümlichkeiten der R- und S-Kolonien deutlich erkennen. Die Oberfläche der R-Kolonien ist entsprechend ihrer gehirnwindungsähnlichen Formation unregelmäßig gewellt (Berg und Tal), während die S-Kolonien eine ziemlich glatte hügelartige Oberfläche zeigen (s. Abb. 1 und 2). Die R-Kolonien wachsen im Ganzen homogen. Die hin und wieder auftretenden Risse, die die ganze Höhe der Kolonie durchziehen, sind teils als Kunstprodukt, teils als Wachstumseigentümlichkeiten aufzufassen. Im Einzelfall zwischen natürlichem Hohlraum und Kunstprodukt zu unterscheiden. ist nicht immer einfach. Einen Anhaltspunkt bietet das den Riß umgebende Bazillengewebe. Erscheint es im Präparat etwas heller,

d. h. schwächer rot tingiert, und sind die Bazillen wild durcheinander gelagert, auseinandergezerrt und gar im Riß verstreut, so deutet das auf ein Kunstprodukt hin. Finden wir dagegen den Hohlraum von einem kräftig gefärbten „Gewebe“ umgeben, in welchem die Bazillen bei genauer Musterung nach einem bestimmten System gelagert sind, und mehr oder weniger scharf mit diesem Rand abschneiden, so ist dieser Hohlraum als eine Wachstumseigentümlichkeit dieser Kolonie aufzufassen. Die Eigenschaft, Hohlräume zu bilden, und so ein filigranwerkähnliches Aussehen zu zeigen, ist vor allem den S-Kolonien zuzuschreiben. Solche Hohlräume finden sich aber auch, wenn auch nur vereinzelt, in den R-Kolonien. Es gibt also kein absolutes, reines Wachstum in einer Kolonie; einmal überwiegt das R-, ein anderes Mal das S-Element, was ja bei der Variationsfähigkeit der Bazillen nicht anders zu erwarten ist (Abb. 3—5).

Was die Färbung anbetrifft, so zeichnet sich die R-Kolonie durch unregelmäßige Färbung aus. Tiefrote Schichten wechseln mit schwachrosa gefärbten Streifen ab, wogegen die S-Kolonien sich homogener färben lassen.

Bei stärkerer Vergrößerung (Oelimmersion) zeigen die R-Kolonien sehr verschiedene Bazillengrößen. „Riesenzellen“ von beträchtlicher Größe wechseln mit kleinen zarten Stäbchen ab. Die Bazillengröße auf dem Schnitt der S-Kolonien ist viel einheitlicher und entspricht auch sonst dem in den S-Kolonien gefundenen Bazillentyp.

Charakteristisch ist ferner die Art und Weise, wie die Tuberkelbazillenkolonien sich während des Fixationsprozesses vom Nährboden ablösen. Während die R-Kolonie sich unregelmäßig abhebt und noch Bazillenreste am Nährboden zurückläßt, löst sich die S-Kolonie glatt und fast vollkommen von ihrer Unterlage ab. Diese interessante Beobachtung ergänzt die bisher gemachten Erfahrungen über die weiche, leicht emulgierbare S-Kolonie im Gegensatz zur harten, schwer emulgierbaren R-Kolonie. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die gesamten Wachstumseigentümlichkeiten der R- und S-Kolonien (Hohlräume bezw. Homogenität) durch dieses verschiedene Verhalten bedingt sind. So halten die R-Bazillen viel zu fest zusammen, um dem Wachstumsdruck von unten nachzugeben, auseinander zu weichen und Hohlräume zu bilden, wie es die weiche, schmiegsame, nachgiebige S-Kolonie tut.

Die gemeinsamen Kulturcharakteristika beider Varianten beziehen sich vor allem auf die typische Anordnung der Bazillen innerhalb der Kultur. Ein Blick ins Mikroskop eröffnet immer wieder aufs neue eine bestimmte Ordnung im Geschehen der Natur.

Jeder Bazillus gehorcht einem Wachstumssystem und gliedert sich als Teil eines Ganzen harmonisch in die Struktur. Das Ganze macht den Eindruck eines Gewebes und erinnert beinahe an Bilder histologischer Schnitte. So sieht man um die Hohlräume eine konzentrische, zwiebelschalenähnliche Anordnung der Bazillen, an anderer Stelle wieder die palisadenförmige bezw. fischzugartige Anordnung der Stäbchen. Die unterste Schicht der Bazillen liegt meist parallel zum Nährboden. Dann biegen die Bazillen um und folgen dem Wachstumsdruck von unten, indem sie entweder dem Gesetz der Faltenbildung (vergl. Gebirge) oder der strahlenförmigen Aufsplitterung folgen. Je nachdem entstehen Hohlräume mit konzentrischen Umwachsungen bezw. solides Bazillengewebe in Zapfen- oder Palisadenform. Viele hundert Schichten von Bazillen liegen so übereinander. Da sich die Bazillen nicht nur in die Höhe, sondern auch in die Breite entwickeln, so kommt es durch Platzmangel zum Ausweichen, zu serpentinartigen Windungen und schließlich über die Faltenbildung zu Hohlräumen. An einzelnen Stellen finden sich Schichten von helleren, homogeneren, bazillenärmeren Stellen. Ob hier ein „virusartiges“ Wachstum stattfindet, läßt sich noch nicht sagen (s. Abb. 5).

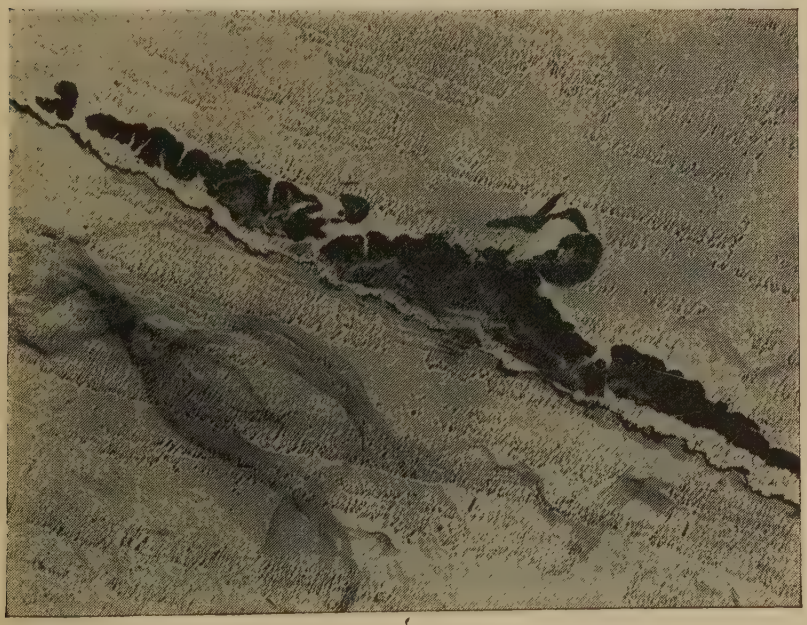

Abb. 1. Schnitt durch R-Kolonie. 175 Tage alt. 40-fach vergrößert.

Abb. 2. Schnitt durch S-Kolonie. 202 Tage alt. 40-fach vergrößert.

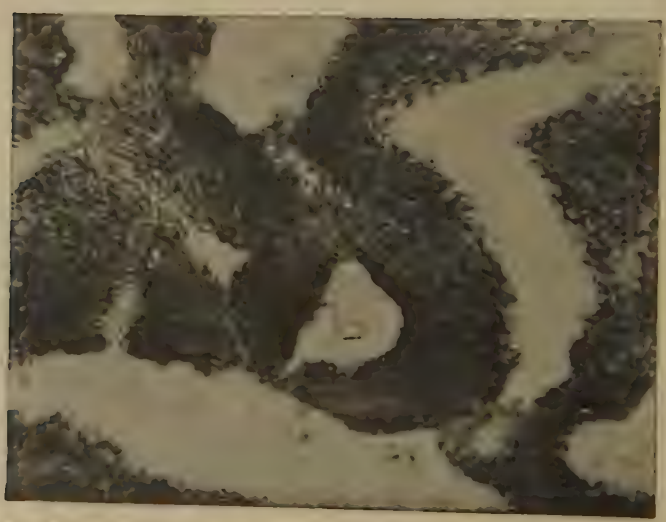

Abb. 3. Schnitt durch S-Kolonie. 202 Tage alt. 750-fach vergrößert.

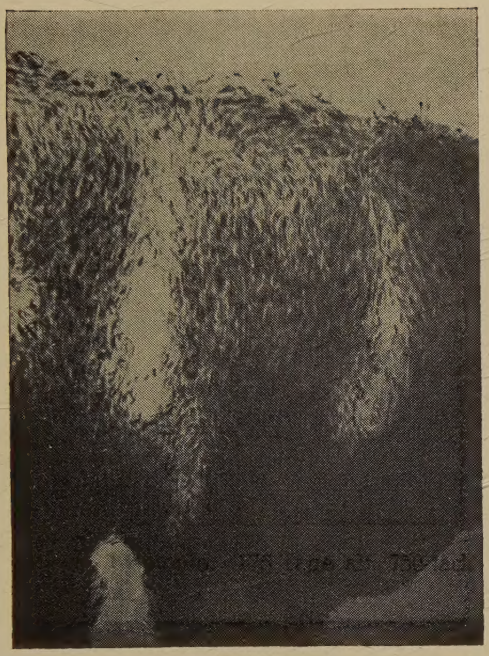

Abb. 4. Schnitt durch R-Kolonie. 175 Tage alt. 750-fach vergrößert.

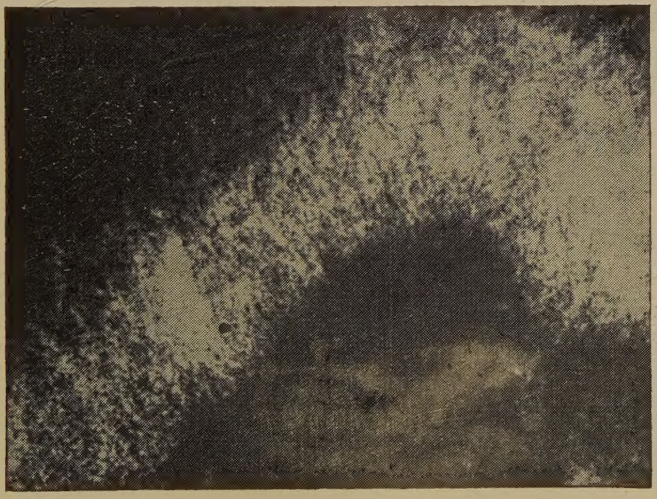

Abb. 5. Schnitt durch R-Kolonie. 175 Tage alt. 750-fach vergößert.

Zusammenfassung.

A) 1. Der Typus humanus des bacillus tuberculosis läßt sich in R-, S- und Ch-Kolonien dissoziieren.
2. S-Kolonien kommen besonders auf feuchten Nährböden vor.
3. Die dissoziierten Kolonien lassen sich wieder zurückverwandeln.
4. Die S-Kolonien bilden weniger pigmentbildende Varianten als die R-Kolonien.
5. Die Chromogenität hängt nicht vom Licht ab, sondern tritt auch im Dunkeln auf, und zwar besonders in älteren Kolonien.
6. Auch die chromogene Varietät läßt sich zurückvariieren.
7. Die Granula treten besonders in älteren Kolonien auf.
8. Die R-Kolonien zeigen sehr verschiedene Größe und Form der Bazillen, während die S-Kolonie gleichmäßig große Stäbchen aufweisen.

B) 9. Im Schnitt zeigen die Tuberkulose-Kulturen eine besondere Struktur.
10. Die R-Kolonien zeigen ein homogenes Wachstum, während die S-Kolonien von zahlreichen Hohlräumen durchsetzt sind.
11. Die R-Kolonien zeigen hie und da hellere Stellen, in denen die „Virus"-Form vermutet werden kann.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Professor Dr. *Rudolf Massini*, meinen aufrichtigsten Dank für die Anregung zu dieser Arbeit, wie auch für seine Ratschläge und freundliche Unterstützung, auszusprechen.

Literatur.

D. Barglowsky: Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, 88, S. 139, (1936).

K. E. Birkhaug: C. r. Soc. Biolog. Paris, 116, S. 424 (1934).

K. E. Birkhaug: C. r. Soc. Biolog. Paris, 119, S. 156 (1935).

K. E. Birkhaug: Ann. Inst. Pasteur, 54, S. 195 (1935).

M. Kahn und *J. Nonidez:* Zentralblatt für Bakteriologie 5—6, S. 128 (1933).

W. Knoll: Deutsches Archiv für klin. Medizin, 109 (1912).

R. Laporte: Ann. Inst. Pasteur 57, S. 400 (1936).

R. Laporte: C. r. Soc. Biolog. 120, 3, S. 399 (1935).

R. Massini: Arch. f. Hygiene, 61, S. 289 (1907).

J. Nedelkowitsch: Ann. Inst. Pasteur, 57, S. 171 (1936).

S. A. Petroff und *W. Steenken jr.:* Journal of exper. Med. 51, S. 831 (1930).

F. Roulet: Zentralblatt für Tuberkuloseforschung, 46, S. 273 (1937).

A. Saenz und *Costil:* Ann. Inst. Pasteur, 55, S. 518 (1935).

A. Saenz: C. r. Soc. Biolog. 122, 2, S. 895 (1936).

J. Valtis und *F. van Deinse:* C. r. Soc. Biolog. 122, 2, S. 895 (1936).

Vandremer: Le bacille tuberculeux, les presses universitaires de France (1927).

H. de Vries: Die Mutationstheorie, Leipzig (1901 und 1903).